

Le réchauffement climatique favorise la maturité de nos cépages et l'obtention de très grands vins. Cependant, les degrés alcooliques de plus en plus élevés, les acidités de plus en plus basses, la richesse phénolique importante et les difficultés fermentaires engendrées par le stress hydrique ont tendance à favoriser l'apparition d'altérations comme le caractère phénolé.

La maîtrise des *Brettanomyces* est devenue une priorité pour la chambre d'agriculture de la Gironde. Nous avons élaboré une méthodologie efficace pour la prévention du caractère phénolé des vins rouges de Bordeaux.

La création de la méthode

Les expérimentations que nous avons menées sur l'influence de pratiques œnologiques sur les populations de *Brettanomyces*, nous ont permis de mettre en évidence l'extrême variabilité du comportement de cette levure. La solution au problème des goûts phénolés ne pouvait donc pas être catégorique. Nous avons alors imaginé une méthode d'estimation du risque à partir des observations des œnologues de terrain des centres œnologiques, de nos observations expérimentales et des données bibliographiques.

Cette méthode consiste à évaluer le niveau de risque sur une échelle de un (très faible) à cinq (très fort) à partir des pratiques œnologiques réalisées et de la composition des moûts et des vins et des conditions de chai.

Avant la récolte, le niveau de risque est positionné en fonction de la fréquence d'apparition d'un caractère phénolé sur les millésimes précédents. Pour chaque phase de l'élaboration, nous estimons l'évolution du niveau de risque. Si le niveau de risque final dépasse une valeur seuil, nous décidons si un contrôle microbiologique doit être réalisé. Le résultat de l'analyse microbiologique est ensuite interprété pour positionner le risque à un niveau « réel ».

Alors, l'œnologue pourra proposer un itinéraire technologique adapté afin de trouver un compromis entre l'objectif « produit » à atteindre et les risques d'altération :

- Si le risque est faible, des techniques pouvant favoriser le développement des *Brettanomyces* pourront être réalisées sans crainte.
- Par contre si le risque est plus fort, nous essaierons de faire baisser les populations par des pratiques œnologiques adéquates ou dans les cas les plus dangereux, nous réaliserons des traitements d'élimination de ces germes indésirables (filtration, flash-pasteurisation...).

Il convient également de signaler qu'une hygiène parfaite est un préalable indispensable à l'application de la méthode pour éviter des contaminations parasites par le matériel. Nous rappelons que nous pouvons réaliser des contrôles d'hygiène afin de s'assurer de ce point.

Nous distinguons 2 grandes phases dans notre approche :

Premier niveau de réflexion : de la réception de la vendange au sulfitage de fin de fermentation malolactique.

Les éléments de base du raisonnement sont les suivants :

- Les *Brettanomyces* pourront se développer de manière très rapide chaque fois que les fermentations alcooliques ou malolactiques ne se déroulent pas et que le vin n'est pas sulfité.
- Tout ralentissement de fermentation peut aussi permettre un développement de *Brettanomyces*.
- La présence de nutriments ou d'éléments favorisant peut accélérer le développement des populations de *Brettanomyces*.
- La répartition du germe dans la cuve n'est pas homogène. Les zones de plus grande concentration sont les marcs et les lies.

Nous conseillons de prélever systématiquement dans les lies pour le suivi de risque.

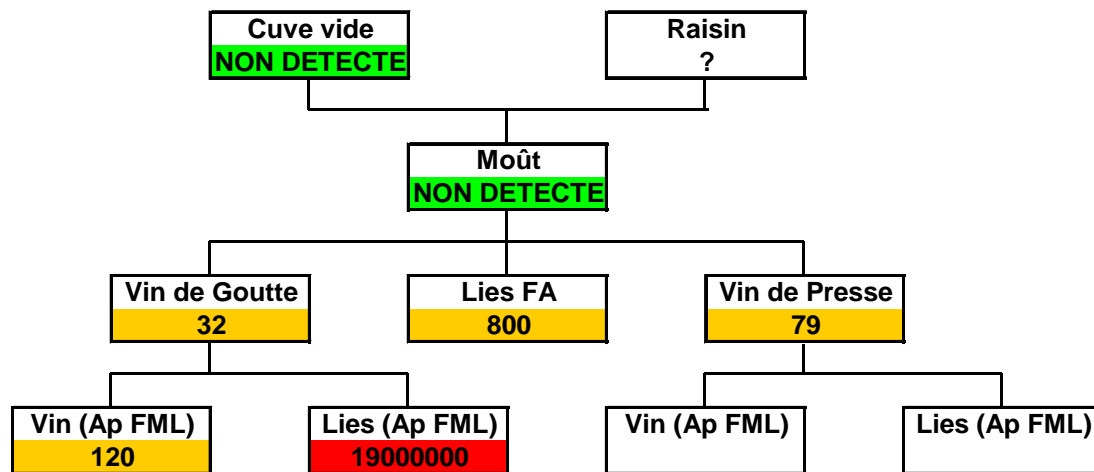


Figure 1 : Exemple de répartition des *Brettanomyces* pendant les phases fermentaires

Tous ces éléments vont permettre de raisonner la vinification en n'oubliant pas que le niveau de risque sera aussi différent en fonction des caractéristiques analytiques des différents vins.

Si on cherche à limiter au maximum le développement des *Brettanomyces*, il faudra alors veiller à réaliser des fermentations alcooliques et malolactiques les plus franches possibles et avec le minimum de délai entre-elles. L'ensemencement avec des levures sèches actives et des bactéries lyophilisées est ainsi un bon moyen de limiter les risques. Il faudra alors rechercher un délai minimum entre la fin des sucres et le déclenchement de la fermentation malolactique, car c'est cette phase sans fermentation ni SO₂ libre qui est la plus favorable à la croissance des *Brettanomyces*. De plus, les résultats de la thèse de Vincent RENOUF ont montré l'absence d'inhibition des *Brettanomyces* par les bactéries lactiques. Une durée de fermentation malolactique importante représente donc également un risque.

Dans certains cas, pour stabiliser la couleur et assouplir les vins, on peut chercher à décaler la fermentation malolactique pour apporter de l'oxygène au vin. Cette technique est certes intéressante pour faire évoluer les polyphénols de manière positive (l'absence de SO₂ facilite beaucoup l'évolution des polyphénols), mais elle augmente aussi nettement les risques en présence de levures d'altération. Il faut absolument connaître le niveau de risque en pratiquant une analyse microbiologique, de préférence sur les lies, à l'écoulage. Des suivis de propriétés réalisés par le Service Vigne et Vin de la Chambre d'Agriculture de Gironde ont montré que

dans certains cas, le vin de goutte ne présentait pas de *Brettanomyces* dénombrables par culture, alors que les lies et les marcs en présentaient des quantités importantes. La répartition de ces germes n'est donc pas homogène dans le milieu et doit inciter à la vigilance pour l'application de certaines techniques comme l'élevage sur lies des vins rouges, qui maintiennent au contact du vin, l'intégralité des germes, qu'ils soient utiles ou dangereux.

Dans certains cas, des erreurs de raisonnement peuvent amener à l'effet inverse de celui recherché. Ainsi, si pour limiter les risques, on a pratiqué un sulfitage important de la vendange (supérieur à 8g/hl) pour assainir le milieu, on peut se retrouver avec des teneurs importantes de SO₂ combiné avant fermentation malolactiques. La phase de latence entre fermentation alcoolique et fermentation malolactique peut de ce fait se trouver fortement augmentée. La résistance des *Brettanomyces* au SO₂ est normalement suffisante pour qu'il n'y ait pas eu d'éradication dans le moût, surtout quand on considère la difficulté à réaliser un sulfitage homogène sur vendange. Le décalage induit dans le temps de la fermentation malolactique amènera donc une possibilité idéale de développement des populations contaminantes ayant survécu.

De même, les ralentissements de fermentation peuvent permettre un développement important des *Brettanomyces*. Les années particulièrement difficiles incitent à rechercher le maximum de sécurité fermentaire. Le dosage de l'azote assimilable est un élément important à demander à son laboratoire sur les moûts. Les conseils d'un œnologue pourront alors permettre un apport raisonné d'activateurs. Il faut considérer également que pour les carences importantes, l'azote n'est pas le seul élément limitant mais des vitamines et d'autres facteurs de croissance comme les stérols devront être apportés.

Enfin, l'utilisation d'enzymes d'extraction peut favoriser la production d'éthyl-phénols si l'activité cinnamyl estérase n'est pas éliminée (en fait rendue négligeable). Cette activité enzymatique secondaire dans les préparations libère le substrat utilisé par les *Brettanomyces* pour produire les Ethyl-phénols. De nombreuses études ont montré que l'utilisation de préparations purifiées portant la mention FCE (Free Cinnamil Estérase) réduisait fortement le caractère phénolé des vins contaminés.

Second niveau de réflexion : de l'élevage à la mise en bouteilles

Pendant la phase d'élevage, le raisonnement devient radicalement différent. En effet, il n'y a plus de fermentations amenant des modifications importantes au niveau microbiologique et des concurrences entre espèces. Les phénomènes sont alors plus lents et relativement continus. Ils dépendent principalement des conditions de milieu qui vont conditionner la dynamique des populations de *Brettanomyces*. Deux éléments prépondérants sont à prendre en compte : le SO₂ actif, fraction du SO₂ libre dépendant du pH et la température. En pratique, l'inhibition par le SO₂ sera d'autant plus efficace que le pH du vin sera bas. Plus on s'approche d'une valeur de pH de 4, plus la protection par le SO₂ devient difficile voire impossible. Pour connaître son niveau de protection, il faut demander à son laboratoire le calcul du SO₂ actif. Les teneurs suffisantes pour inhiber la croissance de *Brettanomyces* sont variables selon les sources bibliographiques mais une valeur de 0,6 mg/l semble un seuil raisonnable.

Une règle de calcul du SO₂ actif à partir du SO₂ libre et du pH a été réalisée par la Chambre d'Agriculture, n'hésitez pas à la demander à votre Centre Œnologique.

Le second paramètre majeur à prendre en compte est la température. Plus celle-ci est élevée, plus la croissance de *Brettanomyces* peut être rapide. La vigilance devra donc être renforcée à partir du printemps, avec un suivi du SO₂ actif et des dénombrements de levures d'altération plus fréquents.

L'évaluation du niveau de risque sera possible à partir d'un simple suivi hebdomadaire de la température du chai, paramètre à relier avec les teneurs en SO₂ actif du vin.

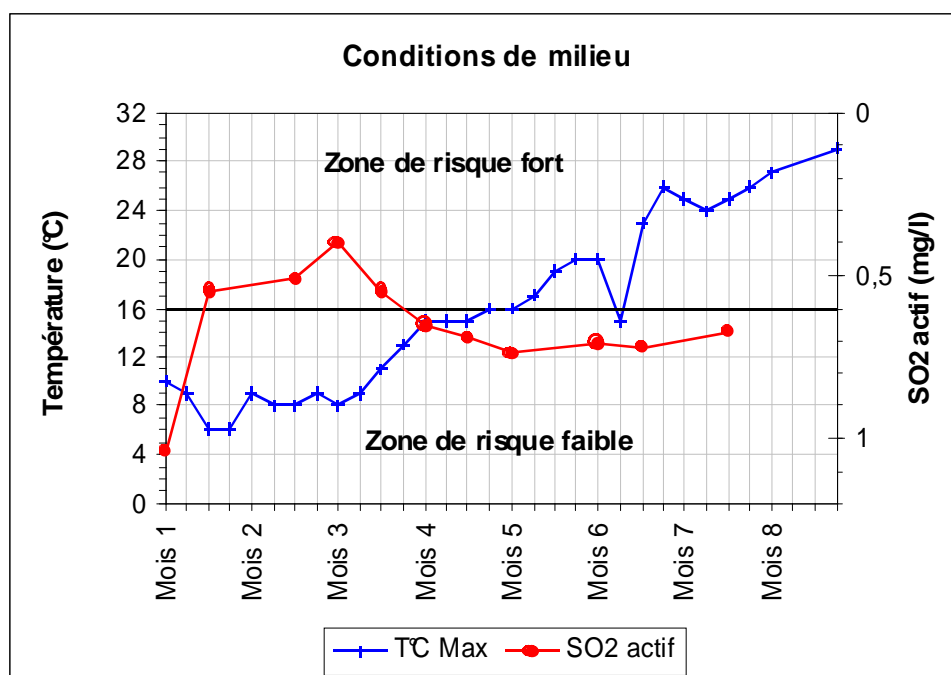


Figure 2 : Influence des conditions de milieu sur le niveau de risque

D'autres éléments vont moduler les risques d'apparition d'un caractère phénolé dans les vins. Tout d'abord, les teneurs en sucres résiduels présentes vont fortement influencer la croissance de *Brettanomyces*. Plus celles-ci seront importantes, plus les risques d'altérations seront élevées (quelques fractions de grammes par litre suffisent). Cependant, bien que le risque soit moindre si les teneurs en glucose-fructose sont inférieures à la limite de détection analytique, la croissance reste toujours possible à partir d'autres sucres non utilisés par *Saccharomyces* et toujours présents dans le vin.

Les aérations ou micro-oxygénations vont également favoriser les *Brettanomyces* soit directement (l'oxygène est un facteur de croissance), soit indirectement en faisant chuter les teneurs en SO₂ actif.

A l'inverse, les éliminations des lies par les soutirages limitent le risque car les *Brettanomyces* ont tendance à sédimenter au fond de la cuve.

Une méthode validée et en constante amélioration

La méthode Bret'Less® a été évaluée sur 10 lots différents dans le millésime 2005. La prévision de l'évolution des populations de *Brettanomyces* a toujours été bonne. La méthode a parfois été un peu pessimiste (risques estimés fort mais populations mesurées faibles) mais a toujours permis d'anticiper sur l'apparition du caractère phénolé en demandant une analyse microbiologique qui laissait apparaître des populations très importantes avant la production d'éthyl phénols.

De plus, dans la plupart des cas l'évolution du niveau de risque est représentative de la dynamique de populations de *Brettanomyces*.

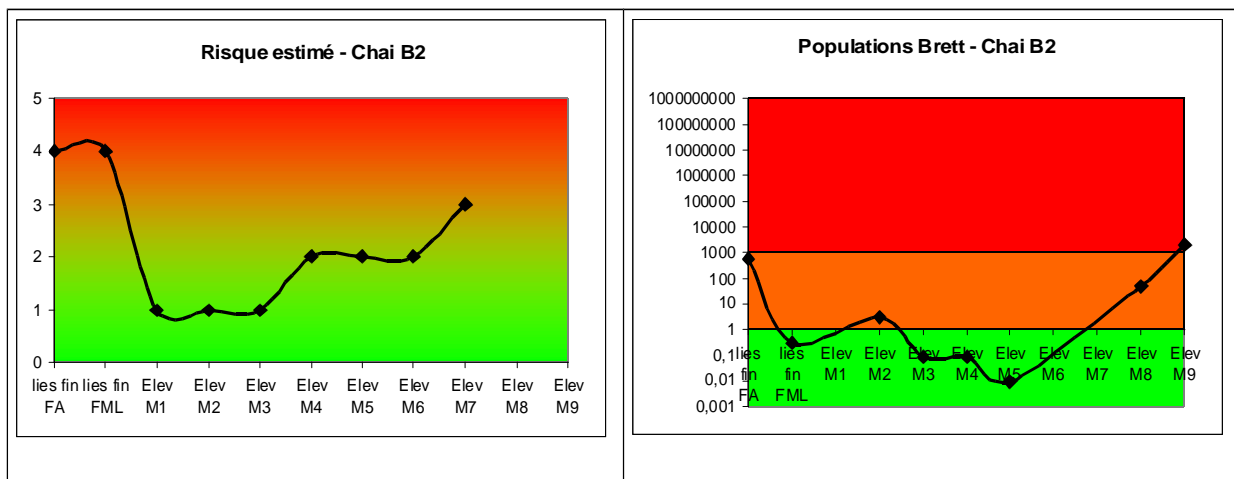


Figure 3 : Correspondance entre le niveau de risque et les populations de *Brettanomyces*

La méthode Bret'Less® est actuellement disponible auprès des Oenocentres. Chaque lot suivi sera enregistré et centralisé dans une base de données afin de réaliser un observatoire du comportement de *Brettanomyces*. Les statistiques réalisées sur l'ensemble des lots suivis permettront ainsi de modifier les paramètres d'estimation du risque afin d'ajuster la méthode à la réalité du terrain. Une réunion de mise en commun annuelle des œnologues des Oenocentres permettra également de compléter la méthode par les observations et l'expérience de chacun.

Un autre élément important dans l'amélioration de la méthode concerne l'analyse microbiologique. **Le laboratoire MICROFLORA a mis au point une technique de PCR quantitative qui permet un dénombrement de *Brettanomyces* rapide (moins de trois jours), extrêmement sélectif (détection spécifique de l'ADN de *Brettanomyces*) et parfaitement représentatif du nombre de cellules vivantes présentes, notamment les cellules viables non cultivables qui passent inaperçues lors des cultures sur boîtes mais sont susceptibles de produire des éthyl phénols.**

En résumé, Bret'Less® permet une réelle maîtrise du risque *Brettanomyces* en réalisant un minimum de dénombrements microbiologiques mais toujours réalisés sur les lots les plus sensibles. Cette méthode pourra s'appliquer avec le suivi d'un œnologue d'un Oenocentre qui pourra trouver avec le vinificateur, la meilleure solution personnalisée et adaptée au chai considéré.

L'extrême variabilité de comportement de *Brettanomyces* amènera certainement l'apparition de phénomènes non prévus par la méthode. Cependant, les premiers résultats montrent que dans tous les cas suivis jusqu'à présent, les points critiques spécifiques de chaque chai apparaissent nettement et les évolutions de *Brettanomyces* sont très bien expliquées. La plupart des chais suivis en 2005 pour la validation ont ainsi pu adapter leur itinéraire technologique afin de mieux maîtriser le risque d'altérations en 2006, et réduire considérablement la contamination de leur chai.



Jean-Christophe Crachereau
Responsable expérimentations œnologiques
jc.CRACHEREAU@gironde.chambagri.fr